

УДК 57.085

## СЛОЖНЫЕ ЭФИРЫ ОРТО-ФТАЛЕВОЙ КИСЛОТЫ В СПОНТАННЫХ ОПУХОЛЯХ ЖИВОТНЫХ

© 2022 г. Е. А. Лозовская<sup>1</sup>, С. Б. Никифоров<sup>1</sup>, А. Г. Еникеев<sup>4</sup>, К. Ю. Костюнин<sup>2</sup>,  
Н. П. Судаков<sup>1,3</sup>, А. А. Семенов<sup>4</sup>

Представлено академиком РАН Б.А. Трофимовым

Поступило 10.12.2019 г.

После доработки 24.09.2021 г.

Принято к публикации 26.09.2021 г.

Впервые установлено, что в спонтанных опухолях, в особенности злокачественной мелкоклеточной опухоли молочной железы собаки и асцитной жидкости с клетками карциномы Эрлиха, содержатся ди-2-этилгексил, дибутилфталат, диэтилфталат. Предполагается, что уровень фталатов в этих клетках определяется активностью экспрессии ядерных рецепторов к эстрогенам и прогестерону, а также особенностями метаболизма ксенобиотиков. Накопление этих соединений в опухолевых клетках может способствовать усилению их злокачественности. Полученные данные могут быть использованы в создании новых диагностических и лечебных медицинских технологий.

*Ключевые слова:* фталаты, асцитная карцинома Эрлиха, спонтанные опухоли домашних животных

DOI: 10.31857/S2686738922010164

Сложные эфиры орто-фталевой кислоты (фталаты) производятся промышленностью и активно используются в медицине, являются компонентами косметических средств, пищевых упаковок, продуктов бытовой химии [1]. Фталаты выявлены также в растительных и животных организмах, где преобладают ди-2R-этилгексилфталат (ДЭГФ) и дибутилфталат (ДБФ), реже встречаются другие формы эфиров [2, 3]. Данные соединения индуцируют окислительный стресс в клетках, обладают генотоксичностью, оказывают негативное воздействие на эмбриогенез, структуру и функции печени, репродуктивную, нервную, эндокринную, дыхательную системы позвоночных животных и человека [4]. Установлены факты онкогенного воздействия фталатов, и, в то же

время, их противоонкогенных эффектов [5]. При этом данные об особенностях содержания фталатов в клетках опухолей и значении их внутриклеточного накопления для канцерогенеза отсутствуют. Целью исследования являлось определение количества ДЭГФ, ДБФ и диэтилфталата (ДЭФ) в злокачественных новообразованиях и здоровых тканях животных.

В исследовании использовались наиболее распространенные спонтанные опухоли домашних животных: злокачественная мелкоклеточная опухоль молочной железы собаки, венерическая саркома собаки, плоскоклеточная папиллома кошки, дерматофиброма собаки и образцы редко встречаемых холангиокарцином собаки и кошки [6]. Также были включены в анализ клетки перививаемой асцитной карциномы Эрлиха, здоровые ткани (яичник кошки). Из исследуемых образцов, опухоль молочной железы, асцитная карцинома Эрлиха и холангиокарцинома имеют происхождение из клеток, наиболее уязвимых к канцерогенному действию фталатов [7, 8]. Взятие биологического материала опухолей и здоровых тканей осуществлялось при проведении плановых лечебных мероприятий у животных в условиях специализированной ветеринарной клиники. Культуру клеток асцитной карциномы Эрлиха,

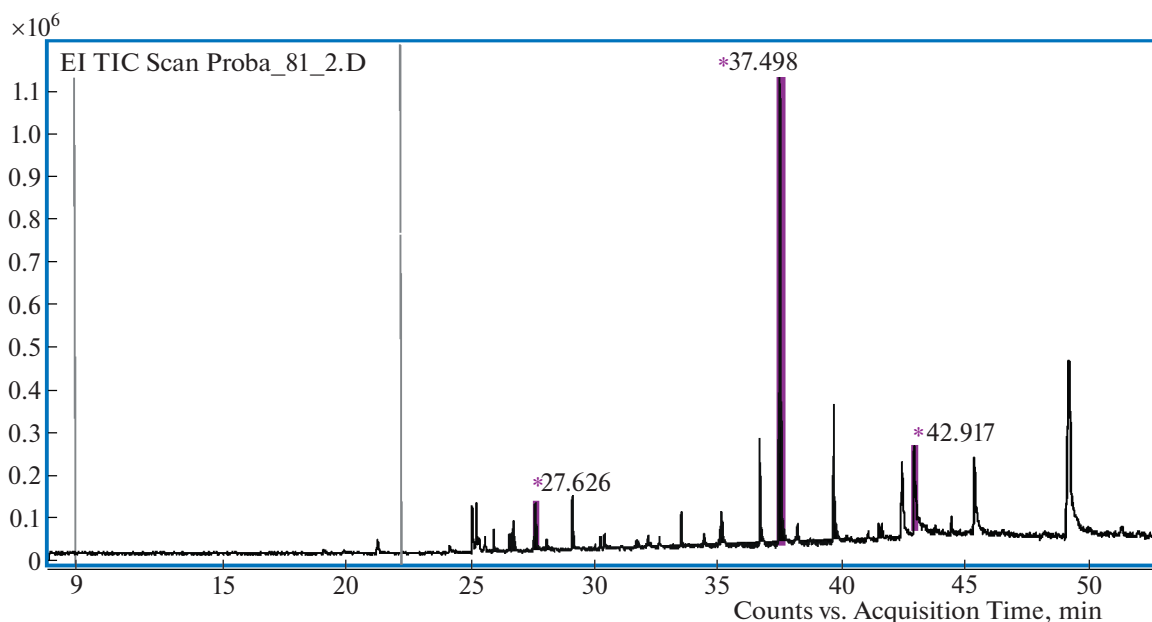
<sup>1</sup> Иркутский научный центр хирургии и травматологии, Иркутск, Россия

<sup>2</sup> Иркутский государственный медицинский университет, Иркутск, Россия

<sup>3</sup> Лимнологический институт СО РАН, Иркутск, Россия

<sup>4</sup> Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия

\*e-mail: molodegny31@mail.ru



**Рис. 1.** Хроматограмма петролейного экстракта из злокачественной мелкоклеточной опухоли молочной железы собаки (№ 1). *Примечание:* 27.626 –дибутилфталат, 37.498 – ди-2-этилгексилфталат, 42.917 – динонилфталат (внутренний стандарт).

полученную в питомнике ГНЦ ВБ “Вектор” (Новосибирская обл., пос. Кольцово), поддерживали, перевивая в брюшную полость самцам белых беспородных мышей, в возрасте 2.0–2.5 мес. Иссле-

дование одобрено Комитетом по этике ИНЦХТ (г. Иркутск) протокол № 7 от 21.06.2012.

Для определения фталатов опухоли замораживали при  $-70^{\circ}\text{C}$ , измельчали до частиц  $>0.5$  мм,

**Таблица 1.** Содержание сложных эфиров фталевой кислоты в спонтанных опухолях, асцитной карциноме Эрлиха и нормальных тканях животных (мкг/г)

| № | Тип ткани   | ДЭГФ        | ДБФ       | ДЭФ       |
|---|---|-------------|-----------|-----------|
| 1 | злокачественная мелкоклеточная опухоль молочной железы собаки | 646.0–660.0 | 3.2–5.0   | 0         |
| 2 | венерическая саркома собаки                                   | 26.8–30.1   | 16.6–20.0 | 1.5–2.7   |
| 3 | плоскоклеточная папиллома кошки                               | 4.0–6.2     | 2.2–3.0   | 21.4–25.3 |
| 4 | холангиокарцинома собаки                                      | 29.7–22.4   | 2.1–3.0   | 38.1–41.1 |
| 5 | дерматофиброма собаки   | 37.0–42.5   | 0         | <1        |
| 6 | холангиокарцинома кошки                                       | 11.1–4.2    | 0         | 1.6–2.3   |
| 7 | асцитная карцинома Эрлиха*                                    | 122.0–125.6 | 44.2–50.9 | 55.3–60.3 |
| 8 | яичник кошки (норма)  | 7.1–8.2     | 3.1–3.9   | 29.5–31.0 |

\* концентрация веществ представлена в мкг/100 мл, может стимулировать в них механизмы канцерогенеза и усиливать их злокачественные свойства. Это объективно подтверждается экспериментами *in vitro*. Показано, что добавление в культуральную среду фталатов способствует повышению пролиферативной активности раковых клеток молочной железы MCF-7, MDA-MB-231, T-47D [11–13]. При этом стимуляция злокачественных свойств данных клеток не зависит от уровня экспрессии в них рецепторов к эстрогенам и прогестерону.

лиофилизировали. Последующую подготовку проб проводили по методике [2], после чего фталаты анализировали на хроматомасс-спектрометре 7000QQQ/7890A Agilent Technologies, (USA) [3] (рис. 1). Для определения фталатов в асцитной жидкости с клетками карциномы Эрлиха, к 60 мл биологического образца добавляли ~40 мл бутанола, упаривали досуха в вакууме при 60°C. Твердый остаток измельчали, экстрагировали легким петролейным эфиром (3 × 50 мл) и определяли фталаты по вышеуказанной методике.

Установлено, что злокачественные опухоли, асцитная жидкость с клетками карциномы Эрлиха и здоровые ткани исследованных животных содержат значительные количества фталатов (табл. 1). Интересным фактом являются выявленные различия концентраций данных веществ в зависимости от вида опухоли. Наибольшее содержание ДЭФ выявлено в образцах злокачественной мелкоклеточной опухоли молочной железы собаки и асцитной карциномы Эрлиха, имеющей первичное происхождение из ткани молочной железы человека.

Для асцитной жидкости с клетками карциномы Эрлиха характерно также наибольшее в сравнении с остальными тканями количество ДБФ и ДЭФ. Возможно, что избирательное накопление фталатов в опухолевых клетках молочной железы предопределяется повышенным уровнем экспрессии ядерных рецепторов (в частности, к эстрогенам, прогестерону), лиганд-связывающие домены которых имеют сходство к фталатам [9, 10]. Нельзя также исключить влияние на внутриклеточную концентрацию фталатов особенностей их метаболизма у данных опухолей. Выявленное в данной работе избирательное накопление фталатов в опухолевых клетках может стимулировать в них механизмы канцерогенеза и усиливать их злокачественные свойства. Это объективно подтверждается экспериментами *in vitro*. Показано, что добавление в культуральную среду фталатов способствует повышению пролиферативной активности раковых клеток молочной железы MCF-7, MDA-MB-231, T-47D [11–13]. При этом стимуляция злокачественных свойств данных клеток не зависит от уровня экспрессии в них рецепторов к эстрогенам и прогестерону.

Таким образом, в спонтанных опухолях животных, в особенности в злокачественной мелкоклеточной опухоли молочной железы собаки, а также в асцитной жидкости с клетками карциномы Эрлиха присутствуют значительные количества диэфиров орто-фталевой кислоты, что возможно предопределяется активностью экспрессии ядерных рецепторов и особенностями метаболизма этих веществ. Повышенный уровень фталатов в опухолевых клетках может усиливать их злокачественность, что важно для разви-

тия методов новой диагностики и лечения в онкологии.

## ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование выполнено в Иркутском научном центре хирургии и травматологии, Иркутском государственном медицинском университете, Лимнологическом институте СО РАН, Сибирском институте физиологии и биохимии растений СО РАН (г. Иркутск) с использованием оборудования ЦКП “Биоаналитика”.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Frederiksen H., Skakkebaek N.E., Andersson A.M. // *Mol. Nutr. Food Res.* 2007. V. 51. P. 899–911.
2. Shafikova T.N., Omelichkina Y.V., Boyarkina S.V., Enikeev A.G., Maksimova L.A., Semenov A.A. // *Dokl. Biol. Sci.* 2019. V. 1. P. 13–15.
3. Enikeev A.G., Semenov A.A., Permyakov A.V., Sokolova N.A., Gamburg K.Z., Dudareva L.V. // *Appl. Biochem. Microbiol.* 2019. V. 55. P. 294–297.
4. Zhang H., Hua Y., Chen J., Li X., Bai X., Wang H. // *J. Environ. Sci. Health. C. Environ. Carcinog. Ecotoxicol. Rev.* 2018. V. 36. P. 125–144.
5. Ahern T.P., Broe A., Lash T.L., Cronin-Fenton D.P., Ulrichsen S.P., Christiansen P.M., Cole B.F., Tamimi R.M., Sorensen H.T., Damkier P. // *J. Clin. Oncol.* 2019. V. 37. P. 1800–1809.
6. Vascellari M., Baioni E., Ru G., Carminato A., Mutinelli F. // *BMC Vet. Res.* 2009. V. 5. P. 39.
7. Konduracka E., Krzemieniecki K., Gajos G. // *Pol. Arch. Med. Wewn.* 2014. V. 124. P. 264–269.
8. Rusyn I., Peters J.M., Cunningham M.L. // *Crit. Rev. Toxicol.* 2006. V. 36. 459–479.
9. Delfosse V., Maire A.L., Balaguer P., Bourguet W. // *Acta. Pharmacol. Sin.* 2015. V. 36. P. 88–101.
10. Kulkoyluoglu-Cotul E., Arca A., Madak-Erdogan Z. // *Trends Endocrinol. Metab.* 2019. V. 30. P. 25–38.
11. Kim I.Y., Han S.Y., Moon A. // *J Toxicol Environ Health A.* 2004. V. 67. P. 2025–2035.
12. Hsieh T.H., Tsai C.F., Hsu C.Y., Kuo P.L., Lee J.N., Chai C.Y., Wang S.C., Tsai E.M. // *FASEB J.* 2012. V. 26. P. 778–787.
13. Crobeddu B., Ferraris E., Kolasa E., Plante I. // *Environ. Res.* 2019. V. 173. P. 165–173.

**COMPLEXES OF ORTHOTHALIC ACID IN SPONTANEOUS ANIMAL TUMORS**

**E. A. Lozovskaya<sup>a,#</sup>, S. B. Nikiforov<sup>a</sup>, A. G. Enikeev<sup>d</sup>, K. Yu. Kostyunin<sup>b</sup>,  
N. P. Sudakov<sup>a,c</sup>, and A. A. Semenov<sup>d</sup>**

*<sup>a</sup> Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology, Irkutsk, Russian Federation*

*<sup>b</sup> Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russian Federation*

*<sup>c</sup> Limnological Institute, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russian Federation*

*<sup>d</sup> Siberian Institute of Plants Physiologies and Biochemistry, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russian Federation*

*<sup>#</sup>e-mail: molodegny31@mail.ru*

Presented by Academician of the RAS B.A. Trofimov

Presence of diethyl-, dibutyl- and 2-ethylhexylphthalates in spontaneous animal's tumors is determined at the first time. Small-cell breast cancer of dog and carcinoma Erlich ascitic liquid with the cells are particularly rich of this substances. It is assumed that the level of phthalates in these cells is due to the activity of expression of nuclear receptors to estrogens and progesterone, as well as the peculiarities of the metabolism of xenobiotics. The accumulation of these compounds in tumor cells can cause the increase of their malignancy. The data obtained can be used for development of new diagnostic and therapeutic technologies.

*Keywords:* phthalates, carcinoma Erlich ascitic liquid, spontaneous animal's tumors